

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

A04

(11)Publication number : 06-040801

(43)Date of publication of application : 15.02.1994

(51)Int.Cl.

A01N 1/02

(21)Application number : 04-218416

(71)Applicant : MORISHITA ROUSSEL KK
AJINOMOTO CO INC

(22)Date of filing : 24.07.1992

(72)Inventor : WADA HIROMI
FUJII MITSU HARU

(54) SOLUTION FOR INTERNAL ORGANS TO BE TRANSPLANTED

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a solution for the internal organs to be transplanted which enables perfusion and storage for a long period of time without any damage in the functions of the organs.

CONSTITUTION: The solution for internal organs to be transplanted contains, in 1,000ml aqueous solution, 50 to 240mM of trehalose, 10 to 40mM of Na⁺, 4 to 140mM of K⁺, 0 to 4mM of Mg⁺⁺, 0 to 2mM of Ca⁺⁺, 12 to 65mM of H₂PO₄⁻ or HPO₄⁻, 15-150mM of Cl⁻, HCO⁻, CO₃⁻, organic acid or organic acid anion, and 0 to 80g of hydroxyethylstarch, and has 270 to 450mOsm/l osmotic pressure and pH 7 to 8.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 16.07.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3253131

[Date of registration] 22.11.2001

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-40801

(43)公開日 平成6年(1994)2月15日

(51)Int.Cl.⁵

A01N 1/02

識別記号

庁内整理番号

7457-4H

FI

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数1(全6頁)

(21)出願番号 特願平4-218416

(22)出願日 平成4年(1992)7月24日

(71)出願人 000191766

森下ルセル株式会社

大阪府大阪市中央区道修町3丁目3番8号

(71)出願人 000000066

味の素株式会社

東京都中央区京橋1丁目15番1号

(72)発明者 和田 洋巳

滋賀県大津市南郷2丁目33番16号

(72)発明者 藤井 光春

滋賀県大津市瀬田月輪町755の86番地

(54)【発明の名称】 移植臓器用溶液

(57)【要約】

【構成】1000ml水溶液中、トレハロースを50～240mM、Na⁺を10～140mM、K⁺を4～140mM、Mg⁺⁺を0～4mM、Ca⁺⁺を0～2mM、H₂PO₄⁻又はHPO₄⁻⁻を12～65mM、Cl⁻、HCO⁻、CO₃⁻⁻、有機酸又は有機酸アニオンを15～150mM、ヒドロキシエチル澱粉を0～80g含有し、浸透圧が270～450mosm/lでpHが7～8である移植臓器用溶液。

【効果】移植用臓器の諸機能を損なうことなく灌流及び長時間保存ができ、しかも製剤学的に安定な移植臓器用溶液を提供できる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】1000ml水溶液中、少なくとも下記の成分を下記の範囲内で含有し、浸透圧が270～450m*

トレハロース	50～240mM
Na ⁺	10～140mM
K ⁺	4～140mM
Mg ⁺⁺	0～4mM
Ca ⁺⁺	0～2mM
H ₂ PO ₄ ⁻ 又はHPO ₄ ⁻⁻	12～65mM
Cl ⁻ 、HCO ₃ ⁻ 、CO ₃ ⁻⁻ 、有機酸又は有機酸アニオン	15～150mM
ヒドロキシエチル澱粉	0～80g

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、移植臓器用溶液に関し、さらに詳しくは移植臓器を灌流又は保存するために用いる溶液に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より欧米において最もよく使用されてきた移植臓器用溶液の一つに、塩化カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、炭酸水素ナトリウム及びブドウ糖を含有するユーロ-コリンズ (Euro-Collins) 液がある。しかし、この溶液は、機能維持力の高い腎臓には利用できるものの、他の臓器については細胞の変性に対する保護作用が充分とは言えず、臓器機能の維持時間が短いという問題がある。最近になって、不浸透剤としてラクトビオン酸ナトリウムとラフィノース、また、膠質浸透圧剤としてヒドロキシエチル澱粉を含有し、さらに細胞のエネルギー代謝を考慮してアデノシンやインスリン等が加えられた電解質溶液、UW液 (特開平1-246201号公報) が開発された。しか

*Osm/lでpHが7～8であることを特徴とする移植臓器用溶液。

※し、この溶液は製剤学的安定性に難点があり、低温保存を必要とするなどの問題がある。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】したがって、本発明の課題は、移植用臓器を灌流又は保存するための溶液であって、臓器機能の維持作用に優れ、しかも製剤学的に安定な溶液を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、種々の電解質、浸透圧調節剤、膠質浸透圧剤及び細胞膜安定剤を用いて、それらの組合せと配合割合につき鋭意検討した結果、上記課題を解決する本発明を完成することができた。

【0005】すなわち、本発明は、1000ml水溶液中、少なくとも下記の成分を下記の範囲内で含有し、浸透圧が270～450mOsm/lでpHが7～8であることを特徴とする移植臓器用溶液を提供するものである。

トレハロース	50～240mM
Na ⁺	10～140mM
K ⁺	4～140mM
Mg ⁺⁺	0～4mM
Ca ⁺⁺	0～2mM
H ₂ PO ₄ ⁻ 又はHPO ₄ ⁻⁻	12～65mM
Cl ⁻ 、HCO ₃ ⁻ 、CO ₃ ⁻⁻ 、有機酸又は有機酸アニオン	15～150mM
ヒドロキシエチル澱粉	0～80g

【0006】本発明のより好ましい実施態様の組成範囲★ ★ (1000ml水溶液中) を示せば次の通りである。

トレハロース	100～210mM
Na ⁺	20～120mM
K ⁺	20～130mM
Mg ⁺⁺	0～2mM
Ca ⁺⁺	0～1mM
H ₂ PO ₄ ⁻ 又はHPO ₄ ⁻⁻	20～60mM
Cl ⁻ 、HCO ₃ ⁻ 、CO ₃ ⁻⁻ 、有機酸又は有機酸アニオン	20～120mM
ヒドロキシエチル澱粉	20～40g

また、浸透圧のより好ましい範囲は、270～380 mOsm/lである。

【0007】上記成分中のトレハロースには α 、 α -トレハロース、 α 、 β -トレハロース及び β 、 β -トレハロースの3種が存在するが、より好ましくは天然に存在する α 、 α -トレハロースである。また、上記のヒドロキシエチル澱粉は、置換度が0.4～0.8の範囲のもので、平均分子量が200000～900000のものが好ましく、さらに好ましくは350000～800000のものである。

【0008】上記有機酸としては、グルコン酸、乳酸、酢酸、プロピオン酸、 β -ヒドロキシ酪酸、クエン酸等が例示でき、上記アニオン及びカチオンを処方するための具体的電解質としては、前記のような有機酸のナトリウム塩又はカリウム塩、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム、塩化カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素二カリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等が例示できる。

【0009】本発明の臓器移植用溶液は、その他の添加物、例えば活性酵素消去剤、ATP等の細胞賦活剤、抗生物質等を含むことができる。

【0010】本発明の移植臓器用溶液は、公知の輸液剤製造方法に準拠して容易に製造できる。

【0011】

【作用】本発明の移植臓器用溶液は、臓器細胞の保護作用と浮腫抑制作用に優れ、その臓器機能を長時間維持することができる。また、本発明の移植臓器用溶液は、UW液成分のインスリンのような不安定な化合物を使用しておらず、製剤学的に安定である。

【0012】

【実施例】

実施例1

約50℃の蒸留水800mlに α 、 α -トレハロース35g、塩化カリウム1.12g、リン酸二水素カリウム2.05g及び、リン酸水素二カリウム7.4gを溶解した後、炭酸水素ナトリウム0.84gと蒸留水を加えて全量を1000mlとした。これを直ちに濾過し、ガラス瓶に充填、密栓後、蒸気滅菌して浸透圧271mOsm/l、pH7.46の移植臓器用溶液を得た。

【0013】実施例2

約50℃の蒸留水800mlに α 、 α -トレハロース70g、塩化カリウム1.12g、リン酸二水素カリウム2.05g及び、リン酸水素二カリウム7.4gを溶解した後、炭酸水素ナトリウム0.84gと蒸留水を加えて全量を1000mlとした。これを直ちに濾過し、ガラス瓶に充填、密栓後、蒸気滅菌して浸透圧373mOsm/l、pH7.42の移植臓器用溶液を得た。

【0014】実施例3

約50℃の蒸留水800mlに α 、 α -トレハロース41g、ヒドロキシエチル澱粉（平均分子量429000、置換度0.55）30g、グルコン酸ナトリウム21.81g、リン酸二水素カリウム0.885g、及びリン酸水素二カリウム3.222gを溶解した後、蒸留水を加えて全量を1000mlとした。これを直ちに濾過し、ガラス瓶に充填、密栓後、蒸気滅菌して浸透圧366mOsm/l、pH7.35の移植臓器用溶液を得た。

【0015】実施例4

10 約50℃の蒸留水800mlに α 、 α -トレハロース41g、ヒドロキシエチル澱粉（平均分子量429000、置換度0.55）、グルコン酸ナトリウム4.362g、グルコン酸カリウム20.263g、リン酸二水素カリウム0.885g、及びリン酸水素二カリウム3.222gを溶解した後、蒸留水を加えて全量を1000mlとした。これを直ちに濾過し、ガラス瓶に充填、密栓後、蒸気滅菌して浸透圧370mOsm/l、pH7.37の移植臓器用溶液を得た。

20 【0016】雑種成犬を用いて左肺同所移植術を施し、本発明移植臓器用溶液による臓器の灌流並びに保存の効果を調べた。

【0017】試験例1

方法

体重7.6～13.2kgの雑種犬34匹を、身長、体重がより合致する2匹（臓器供給犬と同受容犬）を1組にして17組とし、無作為に3群（I群5組、II群6組、III群6組）に分け、以下の実験に供した。

30 【0018】先ず、臓器供給犬をハロセンで麻酔した後、ドリップ法に従って左肺動脈より、8～10℃の被験液（I群に実施例1液、II群に実施例2液、III群に前記ユーロ-コリンズ液を使用）を、50ml/kg、50cmH₂Oの条件下、灌流した。灌流後、心臓と左肺を切り離すことなく摘出し、8～10℃の同被験液500mlに浸漬保存した。12時間後、臓器受容犬の左肺を麻酔下に切除し、バイス法に従って保存の左肺のみを移植した。血液を再灌流し、40分、70分、130分経過毎に右肺動脈をクランプ止めてその都度、常法に従って動脈血酸素分圧及び左肺動脈圧を測定した。

40 【0019】次に、臓器受容犬を犠死させ、移植肺の上部肺葉と下部肺葉からそれぞれ標本を採り、病理所見用にHE染色した。残りの上部肺葉及び下部肺葉それぞれについて、乾燥前の重量（湿重量）とオープン乾燥後の重量（乾燥重量）を測定し、（湿重量）/（乾燥重量）を求めた。

【0020】結果

50 表1に動脈血酸素分圧の測定結果を示した。本発明移植臓器用溶液使用群（I群、II群）の移植肺換気能は、130分後もよく維持されており、比較群、すなわちユーロ-コリンズ液投与群（III群）のそれより有意に優れていることが判った。

【0021】

* * 【表1】

動 脈 血 酸 素 分 圧 (mmHg)

	臓器供給犬	臓器受容犬 (左肺移植、血液再灌流後)		
	左肺摘出前	40分後	70分後	130分後
I 群	281.8 ± 10.6	283.4 ± 14.0	277.5 ± 19.9	264.9 ± 26.2
II 群	287.6 ± 6.7	302.2 ± 14.7	287.9 ± 18.8	257.5 ± 33.0
III 群	283.9 ± 3.4	162.9 ± 44.5	135.1 ± 40.8	114.8 ± 49.2

【0022】表2に移植肺の動脈圧測定結果を示したが、3群間に有意差は認められなかった。しかし、II群、I群、III群の順で低い傾向が認められた。

※【0023】

【表2】

※

移 植 肺 の 動 脈 圧 (mmHg)

	臓器受容犬 (左肺移植、血液再灌流後)		
	40分後	70分後	130分後
I 群	36.4 ± 2.2	35.0 ± 1.4	31.2 ± 2.0
II 群	34.2 ± 4.7	30.3 ± 4.6	30.3 ± 2.5
III 群	41.6 ± 7.0	39.4 ± 6.7	40.8 ± 6.8

【0024】表3に、移植肺の浮腫の程度を反映する指標の一つとして(湿重量)/(乾燥重量)を算出し、その結果を示した。前記と同様、3群間に有意差は認められなかったが、I群、II群、III群の順で浮腫の程度が低い傾向が認められた。

【0025】

【表3】

移植肺の(湿重量)/(乾燥重量)

I 群	6.21 ± 0.64
II 群	6.50 ± 0.20
III 群	8.43 ± 1.14

【0026】HE染色の標本観察の結果、I群及びII群については、全例が殆ど正常な肺構造であった。しかし、III群については、6例中5例に重篤な、残りの1例に部分的な浮腫性変化が認められた。

【0027】試験例2

方法

*

動脈血酸素分圧(mmHg)

	臓器供給犬	臓器受容犬(左肺移植、血液再灌流後)		
	左肺摘出前	40分後	70分後	130分後
IV 群	316.9 ± 26.0	291.5 ± 6.5	299.8 ± 7.5	292.3 ± 20.1
V 群	294.9 ± 9.0	92.1 ± 23.7	96.5 ± 29.6	80.5 ± 20.8

【0030】表5に移植肺の動脈圧測定結果を示した。2群間に有意差は認められなかったが、IV群の動脈圧はV群のそれより低い傾向が認められた。

* 体重7.7~12.9kgの雑種犬22匹を、身長、体重がより合致する2匹(臓器供給犬と同受容犬)を1組にして11組とし、無作為に2群(IV群5組、V群6組)に分け、試験例1と同様にして(IV群に実施例3液、V群にユーロ-コリンズ液を使用)、心臓と左肺を浸漬保存した。20時間後、左肺を移植して血液を再灌流し、40分、70分、130分経過毎に動脈血酸素分圧及び肺動脈圧を測定した。なお、130分経過後には左肺の血管抵抗についても測定した。さらに、試験例1と同様に左肺標本をHE染色し、その残りの(湿重量)/(乾燥重量)を求めた。

【0028】表4に動脈血酸素分圧の測定結果を示した。本発明移植臓器用溶液使用群(IV群)の移植肺換気能は、130分後もよく維持されており、比較群、すなわちユーロ-コリンズ液投与群(V群)のそれより、有意に優れていることが判った。

【0029】

【表4】

【0031】

【表5】

移植肺の動脈圧 (mmHg)

	臓器受容犬 (左肺移植、血液再灌流後)		
	40分後	70分後	130分後
IV 群	26.0 ± 4.3	23.4 ± 4.4	26.8 ± 6.4
V 群	35.4 ± 3.0	29.8 ± 2.3	34.0 ± 3.8

【0032】表6に移植左肺の血管抵抗測定結果を示した。IV群の血管硬化変性の程度はV群のそれより有意に低いことが判った。

*【0033】

【表6】

*

移植肺の血管抵抗 (dynes · sec · cm⁻⁵)

	臓器供給犬 (左肺摘出前)	臓器受容犬 (左肺移植、 血液再灌流、130分後)
IV 群	447.6 ± 125.8	682.2 ± 287.6
V 群	495.3 ± 107.2	2235.7 ± 297.6

【0034】表7に(湿重量) / (乾燥重量)を算出し、その結果を示した。IV群の浮腫の程度はV群のそれより有意に低いことが判った。

【0035】

【表7】

移植肺の(湿重量) / (乾燥重量)

IV 群	5.7 ± 0.3
V 群	8.1 ± 0.5

【0036】HE染色の標本観察の結果、IV群については、全例が殆ど正常な肺構造であった。しかし、V群については、全例に重篤な浮腫性変化が認められた。

【0037】以上の試験結果から、本発明移植臓器用溶液は、臓器機能維持に優れた効果を示すことが判明した。中でも、K⁺濃度がNa⁺濃度の約半分以下で、ヒドロキシエチル澱粉を添加した溶液(実施例3液)は、20時間保存でなお顕著な効果を示すことが分かった。

【0038】

【発明の効果】本発明によれば、移植用臓器の緒機能を損なうことなく灌流及び長時間保存ができ、しかも製剤学的に安定な移植臓器用溶液を提供することができる。

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成13年2月6日(2001.2.6)

【公開番号】特開平6-40801
 【公開日】平成6年2月15日(1994.2.15)
 【年通号数】公開特許公報6-409
 【出願番号】特願平4-218416
 【国際特許分類第7版】

A01N 1/02
 【F I】
 A01N 1/02

【手続補正書】

【提出日】平成11年7月16日(1999.7.16)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

*【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】1000ml水溶液中、少なくとも下記の成分を下記の範囲内で含有し、浸透圧が270~450mOsm/lでpHが7~8であることを特徴とする移植臓器用溶液。

トレハロース	50~240mM
Na ⁺	10~140mM
K ⁺	4~140mM
H ₂ PO ₄ ⁻ 又はHPO ₄ ²⁻	12~65mM
Cl ⁻ 、HCO ₃ ⁻ 、CO ₃ ²⁻ 、有機酸又は有機酸アニオン	15~150mM

【請求項2】さらに、前記1000ml水溶液中に、ヒドロキシエチル澱粉を80g以下含有する請求項1に記載の移植臓器用溶液。

【請求項3】前記ヒドロキシエチル澱粉の含有量が20g以上40g以下である請求項2に記載の移植臓器用溶液。

【請求項4】さらに、前記1000ml水溶液中に、Mg²⁺を4mM以下及び/又はCa²⁺を2mM以下各々含有する請求項1~3のいずれかに記載の移植臓器用溶液。

【請求項5】浸透圧が270~380mOsm/lの範囲内にある請求項1~4のいずれかに記載の移植臓器用溶液。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0002

【補正方法】変更

【補正内容】

【0002】

【従来の技術】臓器移植は、機能が低下、廃絶した組織、臓器の代わりに別の組織、臓器を移しかえて機能回復をはかることを目的とし、血管吻合を要しない組織又は細胞の移植(角膜や皮膚移植、骨髄移植など)と、血行再建を必要とする移植とがある(南山堂医学大辞典、1990年)。従来より欧米において最もよく使用され※

トレハロース	50~240mM
Na ⁺	10~140mM

※てきた移植臓器用溶液の一つに、塩化カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、炭酸水素ナトリウム及びブドウ糖を含有するユーロ-コリンズ(Euro-Collins)液がある。しかし、この溶液は、機能維持力の高い腎臓には利用できるものの、他の臓器については細胞の変性に対する保護作用が充分とは言えず、臓器機能の維持時間が短いという問題がある。最近になって、不浸透剤としてラクトビオン酸ナトリウムとラフィノース、また、膠質浸透圧剤としてヒドロキシエチル澱粉を含有し、さらに細胞のエネルギー代謝を考慮してアデノシンやインスリン等が加えられた電解質溶液、UW液(特開平1-246201号公報)が開発された。しかし、この溶液は製剤学的安定性に難点があり、低温保存を必要とするなどの問題がある。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正内容】

【0005】すなわち、本発明は、1000ml水溶液中、少なくとも下記の成分を下記の範囲内で含有し、浸透圧が270~450mOsm/lでpHが7~8であることを特徴とする移植臓器用溶液を提供するものである。

50~240mM
10~140mM

K^+	4~140mM
$H_2PO_4^-$ 又は HPO_4^{--}	12~65mM
Cl^- 、 HCO_3^- 、 CO_3^{--} 、有機酸又は有機酸アニオン	15~150mM

但し、必要に応じてヒドロキシエチル澱粉（以下、「HES」ともいう。）を1000ml水溶液中に80g以下含有させると好ましい。又、電解質のカチオンとしても上記ナトリウムイオンやカルシウムイオンの他に Mg^{++} 4mM以下及び/又は Ca^{++} 2mM以下を含有させても良い。

【手続補正4】

※

トレハロース	100~210mM
Na^+	20~120mM
K^+	20~130mM
$H_2PO_4^-$ 又は HPO_4^{--}	20~60mM
Cl^- 、 HCO_3^- 、 CO_3^{--} 、有機酸又は有機酸アニオン	20~120mM

さらに、本発明の移植臓器用溶液に、 Mg^{++} 、 Ca^{++} 及びヒドロキシエチル澱粉のうちのいずれか一種以上を含有させる場合、好ましい含有量（1000ml水溶液中）は、それぞれ Mg^{++} 2mM以下、 Ca^{++} 1mM以下、ヒドロキシエチル澱粉20~40gである。また、浸透圧のより好ましい範囲は、270~380mOsm/lである。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正内容】

【0015】実施例4

約50℃の蒸留水800mlに α 、 α -トレハロース41g、ヒドロキシエチル澱粉（平均分子量429000、置換度0.55）30g、グルコン酸ナトリウム4.362g、グルコン酸カリウム20.263g、リン酸二水素カリウム0.885g、及びリン酸水素二カリウム3.222gを溶解した後、蒸留水を加えて全量を1000mlとした。これを直ちに濾過し、ガラス瓶に充填、密栓後、蒸気滅菌して浸透圧370mOsm/l、pH7.37の移植臓器用溶液を得た。

※

	実施例1	実施例2	実施例3	実施例4
トレハロース(mM)	102	205	120	120
ナトリウム(mM)	10	10	100	20
カリウム(mM)	115	115	43	130
グルコン酸(mM)	—	—	100	106
リン酸(mM)	58	58	25	25
HES(%)	—	—	3	3
浸透圧(mOsm/L)	271	373	366	370
pH	7.46	7.42	7.35	7.37

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正内容】

【0006】本発明のより好ましい実施態様の組成範囲（1000ml水溶液中）を示せば次の通りである。

※【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正内容】

【0016】雑種成犬を用いて左肺同所移植術を施し、本発明移植臓器用溶液による臓器の灌流並びに保存の効果を調べた。なお、実施例1~4の移植臓器用溶液の成分濃度は後述の表8に記載した通りである。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

【補正方法】変更

【補正内容】

【0036】HE染色の標本観察の結果、IV群については、全例が殆ど正常な肺構造であった。しかし、V群については全例に重篤な浮腫性変化が認められた。以上の実施例の溶液の成分濃度は、表8の通りである。

【表8】